蝶と蛾　*Lepidoptera Science* **63** (3): 142–150, September 2012

ヒョウモンチョウとコヒョウモンの人工雑種と混棲地における自然雑種

北原　曜

396-0014 長野県伊那市狐島 4224-1

Artificial interspecific and natural hybrids between sympatric *Brenthis daphne* and *B. ino* (Lepidoptera, Nymphalidae) in Nagano Prefecture, Japan

Hikaru KITAHARA

Kitsunejima 4224-1, Ina-shi, Nagano, 396-0014 Japan

Abstract Interspecific hybridization between *Brenthis daphne* and *B. ino* was carried out by placing pairs in cages, and the F1 hybrids were back crossed. Growth of larvae and the morphology and sexual ratio of adults were normal. Both male and female adults were able to reproduce. Naturally occurring hybrids were identified in surveys of two areas in Nagano Prefecture in central Japan where both species occur. Individuals thought to be natural hybrids were collected as larvae from these areas. Although these species are recognized as being distinct species, these findings show that there is genetic introgression.

Key words artificial hybrid, natural hybrid, *Brenthis*, back cross, sympatric species.

はじめに

前報（北原, 2008）では, ヒョウモンチョウ *Brenthis daphne* ♀とコヒョウモン *B. ino* ♂の組合せでケージペアリングに成功し, 人工雑種F1の幼生期や成虫の特徴などについて報告した. その中で, 今後の研究方向として, F1の生殖能力の検定と混棲地調査の必要性を指摘した. そこで本報では, その後新たにF1を作成し, そのF1を戻し交配し雑種第3代まで交雑実験した結果と混棲地における自然雑種の調査結果について報告する.

交雑実験および混棲地調査の方法

1. 交雑実験

交雑あるいは戻し交配に用いた個体は, ヒョウモンチョウ（以下, ナミと呼称）が長野県伊那市ますみヶ丘産と木曽町開田柳又産の交配累代個体, コヒョウモン（以下, コヒと呼称）が長野県木曽町開田髭沢産の累代個体である. 各産地の混棲状況は, ますみヶ丘はナミ単棲地, 開田柳又と髭沢は混棲地である.

交雑は, 前報の追試を兼ねて, 飼育羽化させた個体をコヒ♀とナミ♂, ナミ♀とコヒ♂の組み合わせで, 幅 22.5 cm × 奥行き 30 cm, 高さ 30 cm の自作の直方体ケージに放ち, ケージペアリングを試みた. ナミとコヒの交雑実験は, 2008年, 2010年, 2011年に行い, ケージペアリングによる種間交雑の頻度を調査した（表1）. 表1の2008年と2010年に交雑した個体♀から採卵し, F1幼虫を翌春飼育羽化させた. このF1成虫♀♂について, 2009年と2011年にそれぞれ戻し交配を行い採卵した. この組合せは多数になるため, 一部の組合せについては採卵した卵の内部に幼虫が形成されていることを確認し, 生殖能力の有無だけを判定した.

2009年に戻し交配し2010年春に幼虫飼育した戻し交配世代（BC1）は, さらに戻し交配を行った. 翌春, これより得た戻し交配世代（BC2）の一部を飼育し, 2011年に3度目の戻し交配を行い, 2011年秋にBC3となるべき卵内1齢幼虫の形成を確認している. ただし, 両種は卵内1齢幼虫で夏から翌春まで過ごすため保管が難しく, カビなどによる死亡が多数出ているので, 翌春の孵化率は正確には算出できなかった.

なお本報告では, ナミをD, コヒをIとし, 例えばナミ♀×コヒ♂の雑種第1世代はF1 (D × I) というように, 括弧内は♀の種×♂の種と表記した. またこのF1 (D × I) の♀にナミ♂を戻し交配した雑種は, BC1 ((D × I) × D) のように表記した.

交配は全てケージペアリングで行い, 幼虫はナミの遺伝子の割合が大きい雑種にはワレモコウ, コヒの遺伝子の割合の大きい雑種にはオニシモツケを与えた. また, ナミとコヒは同じくケージペアリングで交配し累代飼育を続け, 戻し交配に供した.

なお幼虫の飼育方法は, 2月末～3月はじめに自宅庭に置いた食草鉢内（袋がけしてある）に卵を入れ自然に孵化成育させ, 5月はじめの中齢期に回収, 以後は室内飼育とした.

2. 混棲地調査

混棲地の自然雑種調査は, 2009, 10, 11年の6月下旬～7月中旬に長野県木曽町開田髭沢と南牧村飯盛山を対象に行った. 両種及び自然雑種の個体数比率については, 特に2010年7月2, 4, 5日に開田髭沢で集中的に行った.

自然雑種の抽出は, 採集圧を避けるため♂についてのみ行

い，上記交雑実験から得られた雑種の形態的特徴からHybrid index (Svensson *et al*., 2011) を算出して判定した．このほか，開田髭沢では2011年5月21日と6月4日に幼虫採集を行った．ワレモコウ，オニシモツケより得られた幼虫は，持ち帰りそのままそれぞれの食草で飼育し，幼虫の形態や羽化成虫などを記録した．また少数例ではあるが，両混棲地から交尾済み♀を採集し，採卵飼育することにより自然に種間交雑が起きている可能性も検討した．さらにコヒ成虫♂の移動性を調べるため，開田髭沢において2011年7月2，9日の発生期に後翅裏面にマジックインキで個体番号を記入し，後日再捕獲を試みた．

結果と考察

1. 交雑結果

表1の2段目に示すように，ナミ♀×コヒ♂の組合せのみ種間交雑が計2組成功した．前報(2008)の結果も合計すると，この組合せのケージペリングで3組が交雑したことになる．交尾に至る行動を観察すると，ケージ内のコヒ♂はナミ♀を追飛したり頻繁に交尾を迫ったりしており，この組合せでは比較的交雑しやすいものと考えられる．なお，表の上段に示したように，ナミ，コヒとも自種同士でもケーペアリングで6組中2組が交尾に至らず，全てが交配に成功するわけではない．したがって8組中2組という少数例ではあるが，ナミ♀×コヒ♂の組合せでのケージペアリングによる交雑は比較的高い確率と考えられる．一方，逆の組合せであるコヒ♀×ナミ♂は，2008，09，11年の合計11例とも交雑せず，前報の結果と含めるとこの組合せでは交雑しないものと考えられる．実際にケージ内のナミ♂の行動を観察すると，ナミやコヒの同種同士やナミ♀×コヒ♂の組合せのような追飛行動はなく，ナミ♂はコヒ♀に全く無関心であった．以上の結果より，ナミとコヒは生活史条件などが一致した場合には野外でも，ナミ♀×コヒ♂の組合せでのみ交雑が起こる可能性が示された．

表1の2段目のナミ♀×コヒ♂の孵化率などの数値は，交雑した2組の平均値を示したが，詳細を記すと，このうち1組は，170卵のうち150卵が孵化し（孵化率88%），幼虫期の死亡はなく蛹化失敗1頭，羽化失敗1♂があったほかは，正常羽化148個体（性比は未調査）であった．もう1組は，越冬中に事故があったため145卵のうち71卵が孵化し（孵化率49%）たが，幼虫期や蛹期の死亡や羽化失敗はなく40♂31♀が正常に羽化した．この結果は北原（2008）の報告したF1の性比がほぼ1 : 1であった結果と同様である．

得られたF1に対し，F1同士の交配および戻し交配を試みたところ，全ての組合せでF1は，♀♂ともナミ，コヒと自種同士に近い確率で交配し，産卵も全ての組合せで有精卵を150卵以上産んだ．この結果から，いったんF1が発生するとF1は両種と戻し交配してしまう可能性が示された．すなわち，両種間で交雑が起こると，F1はどちらの種とも戻し交配するため両種に相手の種の遺伝子が浸透してしまう可能性があることを示している．

表1．ケージペアリングによるヒョウモンチョウとコヒョウモン，F_1，およびその戻し交配1，2世代目の交配結果．
Table 1. Mating outcomes between *B. daphne* and *B. ino* and back crosses using the caged pairing method.

Female	Male	Number of females tested	Number of matings	Mean number of fertilized eggs	Mean hatching rate(%)*	Mean pupation rate(%)**	Mean emergence rate(%)***
B. daphne (D)	*B. daphne* (D)	6	4	115	25.2	96.6	100
B. ino (I)	*B. ino* (I)	6	4	142	16.8	96.1	100
B. daphne (D)	*B. ino* (I)	8	2	158	70.2	99.5	99.5
B. ino (I)	*B. daphne* (D)	11	0	—			
F_1 (D×I)	*B. ino* (I)	5	5	>150	4.7	85.7	100
F_1 (D×I)	*B. daphne* (D)	5	4	>150	2.0	100	100
F_1 (D×I)	F_1 (D×I)	8	6	>150	2.7	75.0	100
B. ino (I)	F_1 (D×I)	10	5	>150	—		
B. daphne (D)	F_1 (D×I)	6	4	>150	22.0	100	100
BC1 ((D×I)×I)	*B. ino* (I)	1	1	>150	0.7	0	—
BC1 ((D×I)×I)	*B. daphne* (D)	1	0	—			
BC1 (D×(D×I))	*B. ino* (I)	1	0	—			
BC1 (D×(D×I))	*B. daphne* (D)	2	1	>150	50.7	73.7	100
B. ino (I)	BC1 (D×(D×I))	2	0	—			
B. daphne (D)	BC1 (D×(D×I))	2	2	>150	10.0	26.7	100
BC2 ((D×(D×I))×D)	*B. ino* (I)	2	1	>150	Crossing tests ongoing		
BC2 ((D×(D×I))×D)	*B. daphne* (D)	2	2	>150			
B. daphne (D)	BC2 ((D×(D×I))×D)	2	0	—			

*: Hatching rate was low due to the growth of mold in the long egg stage.
**: Pupation rate(%)=100*Number of pupae/number of hatched larvae.
***: Emergence rate(%)=100*Number of adults/number of pupae.

各BC1の幼生期は，越冬卵の保管が困難なため孵化率が悪いが，孵化以降は比較的順調な成育で，成虫も異常が見られなかった．BC1の終齢幼虫を親種と共に比較する（図1）と，ナミの遺伝子の割合が増えるにしたがい，よりナミに似た形態と斑紋になっている．すなわち，コヒに対してナミの遺伝子の割合が高まると，体長が大型化すること，胴部の地色が黒色から淡褐色になること，2本の背線が無いか不明瞭だったものが徐々に明瞭化し太くなること，突起の色が赤褐色から褐色になること，気門下線が黄白色から太い白色になることなど，遺伝子の割合に応じて終齢幼虫の形態と斑紋がコヒからナミに徐々に移り変わっていく．なお，例えばBC1には，F1♀×コヒ♂とコヒ♀×F1♂の2つの組合せがあるが，終齢幼虫は全く同じ形態で見分けがつかない．他の組合せも同様で，♀♂の組合せが異なっても遺伝子の割合が同じならば判別がつかない．成虫についても同様で，♀♂の組合せが異なっても斑紋などからは判別がつかない．羽化個体数は多くないが，BC1 ((D × I) × I) では2♂4♀，BC1 ((D × I) × D) では3♀，F1同士の交配である ((D × I) × (D × I)) では2♂1♀，BC1 (D × (D × I)) では21♂12♀で性比の偏りは認められなかった（二項検定，$p > 0.05$）．

表1の4段目にBC1の戻し交配結果を示す．表に示したように，少数例ではあるがBC1成虫は♀♂とも遺伝子の割合の近い親種と交尾した．例えば，コヒへの戻し交配第1世代BC1 ((D × I) × I) ならばコヒと，ナミへの戻し交配第1世代BC1 (D × (D × I)) ならばナミと交配した．交配後，いずれの組合せも有精卵を150卵以上産んだ．したがって，BC1もまた♀♂とも正常な生殖能力があるものと考えられる．

BC2 ((D × (D × I)) × D) 終齢幼虫では，ナミの遺伝子の割合が高く，ナミ終齢幼虫と見分けがつかない（図2）．BC2はやや低い蛹化率で，羽化個体数は，BC2 ((D × (D × I)) × D) が31♂25♀，BC2 (D × (D × (D × I))) が4♂であった．後者が♂に偏っていたがこの原因は羽化個体数が少なかったためと考えられる．表1最下段に，F1にナミを交配し続けたBC2の交配結果を示す．組合せ例が少数であるが，ナミの遺伝子の割合が高いBC2♀はナミ♂ともコヒ♂とも交配し，卵内の幼虫も正常に確認された．一方，BC2♀とコヒ♂についても交配し，卵内の幼虫も正常に確認された．すなわち，ナミの遺伝子の割合が高いBC2♀は，コヒ♂，ナミ♂とも交尾した．これは，ナミ♀×コヒ♂の組合せで交配が起きることと同様である．2012年1月現在，表1最下段から得られた2組のBC3が卵内1齢幼虫で越冬中である．

以上のように，卵の保管が困難なため孵化率は低くなったが，F1，BC1，BC2とも幼生期の死亡や羽化失敗は少なく性比もほぼ正常であり，♀♂とも成虫は正常な生殖能力があるものと考えられる．

表1の交配結果を交尾の成否で考察する．まず♂について見ると，コヒ♂はナミ♀とも交配するようにナミの遺伝子の割合に関わらず全ての♀と交配すると考えられるが，ナミ♂はコヒの遺伝子の割合が1/2までの♀と交配すると推測され，コヒより厳格に♀を選んでいると考えられる．一方，♀について見ると未実験の組合せもあるが，コヒ♀は少なくともナミの遺伝子の割合が3/4の♂までは交配するが，ナミ♂とは交配しない．またナミ♀は，BC2 ((D × (D × I)) × D)♂とは交配しなかったが，コヒ♂とは交配するため，コヒの遺伝子の割合に関わらず全ての♂と交配すると推測される．以上から，コヒ♂とナミ♀は全ての遺伝子の割合の相手と交配可能な個体がいるが，ナミ♂とコヒ♀は厳格に相手を選択しているものと見られる．特に，ナミ♂は相手の遺伝子の割合が1/2までは交配するものの，それ以上
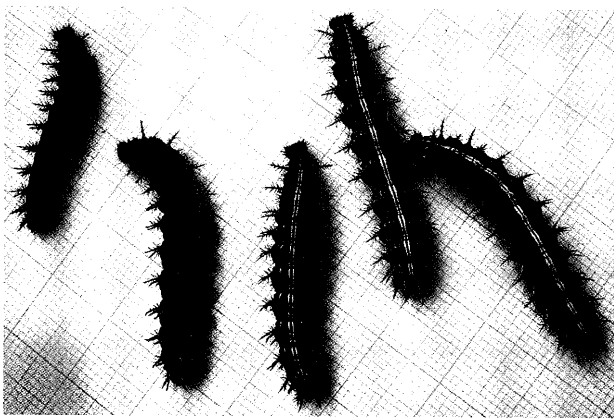
図1. コヒョウモン，人工雑種，ヒョウモンチョウの終齢幼虫の比較（2010年5月15日）．
左より，コヒョウモン，BC1 ((D × I) × I)，F1同士の交配 ((D × I) × (D × I))，BC1 (D × (D × I))，ヒョウモンチョウ．

Fig. 1. Mature larvae of *B. ino* (I), *B. daphne* (D), and back crosses (from left to right): I, BC1 ((D × I) × I), ((D × I) × (D × I)), BC1 (D × (D × I)), and D.
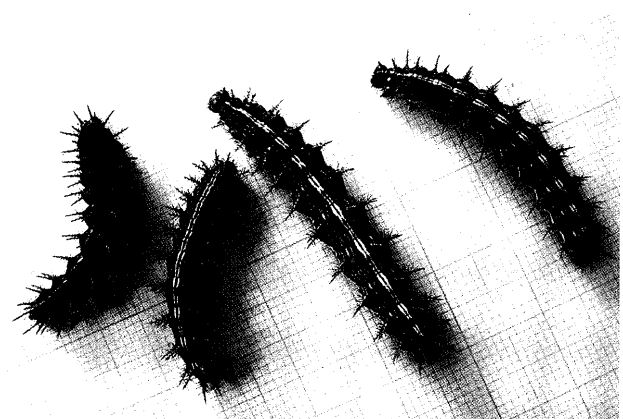
図2. コヒョウモン，人工雑種，ヒョウモンチョウの終齢幼虫の比較（2011年5月4日）．
左より，コヒョウモン，F1，BC 2 ((D × (D × I)) × D)，ヒョウモンチョウ．

Fig. 2. Mature larvae of *B. ino* (I), *B. daphne* (D), cross, and back cross (from left to right): I, F1, BC2 ((D × (D × I)) × D), and D.

の♀とは交配しないようであり，より厳格に相手を選択していると考えられる．しかし，これらの結果は相対的なものであり，コヒ，ナミとも自種の遺伝子の割合が1/2であるF1と比較的高い確率で交配してしまうことは，両種の遺伝子が互いに相手の遺伝子中に入り込む可能性があることを示している．

以上のように，コヒ♂はナミ♀と交配し，F1，BC1，BC2の幼虫期も良好に成育することから，混棲地でコヒ♂と未交尾のナミ♀が出会う場合には雑種形成が起こりうると考えられた．また，F1は♀♂とも生殖能力を持ちどちらの親種とも交配するため，野外においても♀♂の羽化時期が合えば戻し交配個体は比較的容易に形成されるものと考えられた．ただし表1に示したように，戻し交配第1世代目BC1以降は，戻し交配親種と交配しやすいのかもしれない．例えば，F1の相手がコヒかナミであるかによって，その後の交配相手が決まっていき，コヒならばその後もずっとコヒに，ナミならばその後もずっとナミと交配していき，最終的にはコヒ個体群またはナミ個体群に相手の遺伝子が取り込まれていくことが考えられる．これらの実験結果からは，コヒ♂と未交尾ナミ♀が出会う混棲地で種間交雑が起きている可能性があること，いったん交雑が発生すると他種の遺伝子が自種の遺伝子中に取り込まれ薄められていくと考えられた．

なお，交尾から産卵するまでの期間は，コヒ♀が7〜8日（5例の平均7.2日），F1♀が4〜8日（8例の平均6.0日），BC1((D × I) × I) ♀が7日（1例のみ），BC1 ((D × I) × D) ♀が7日（1例のみ），BC2 ((D × (D × I)) × D) ♀が16〜22日（2例の平均19日），ナミ7〜12日（7例の平均9.0日）で，コヒ，ナミとも長い傾向がある．特にBC2♀が非常に長く，またナミがやや長い．ナミでこの期間が長いことから，交配後産卵までの間に♀は長い距離を移動することも可能である．もしこのような移動があるなら，この移動が次世代での交配相手の決定に強く影響すると考えられる．なお，BC2♀の交配後産卵までの期間が異常に長いことは，交雑による弊害なのか，たまたま起きたことなのか少数例で判断できない．

図3に，羽化した人工雑種成虫♀♂をナミからコヒに遺伝子の割合が増えていく順に示す．図にはF1同士を交配した ((D × I) × (D × I)) も示す．図示のように，♀♂とも前翅外縁の形状，前翅表面第1b室の3つの黒斑の間隔と形状，後翅裏面外縁の紫白色の斑紋など，いずれもナミからコヒの遺伝子の割合が増えるに従い，コヒに似た形態や斑紋になっていく．またF1同士を交配した((D × I) × (D × I))はF1と同様な斑紋をしており見分けが難しい．なお，♀♂の組合せが異なっても遺伝子の割合が同じならば同様な形態や斑紋となり判別ができない．

2. 混棲地調査

図4に木曽町開田髭沢で成虫採集した♂個体のうち自然雑種と推定される個体例を示す．図示のように，翅形や翅表の前翅1b室の黒斑，翅裏の後翅斑紋など両種の中間的形態，あるいはどちらかの種に近いながらも両種ではない形態を示している．そのため，両親種のいくつかの形態の違いを0〜1の数値で表現し平均したHybrid Indexを使って，自然雑種の前後翅の斑紋を数値化してみた．ここでは，ナミの形態を1，コヒの形態を0，人工雑種F1の形態を0.5，コヒとの戻し交配個体BCI ((D × I) × I) の形態を0.25，ナミとの戻し交配個体BC I (D × (D × I)) の形態を0.75とし，0.25刻みで判定したが，判定が難しい場合は0.5刻みとした．♀♂とも比較に用いた形態は以下の5項目としたが，♀は違いが顕著ではなく♂に準じて行ったものの判定が難しい．

1. 前翅表1b室亜外縁の2個の黒斑：ナミのように分離していれば1，コヒのように完全に融合していれば0，融合してはいるが黒斑が2個あることが判断されれば0.5とする．
2. 前翅外縁の形状：ナミのように直線状ならば1，コヒのように丸い形状ならば0，中間的ならば0.5とする．
3. 前後翅表の地色：ナミのように黄褐色ならば1，コヒのように赤褐色ならば0，中間的ならば0.5とする．
4. 後翅裏亜外縁の紫白色の有無：ナミのように無いならば1，コヒのように幅広く明瞭にあるならば0，不明瞭ながら確認できるならば0.5とする．
5. 後翅裏の地色：ナミのように濃淡のある紫褐色なら1，赤褐色なら0，中間的な色で濃淡があるなら0.5とした．

図4では自然雑種と推定される4個体について，このHybrid indexで評価した数値を示したが，No.29，31，35が0.65〜0.70でナミに近い自然雑種，No.33が0.45でコヒに近い自然雑種と判定された．

2010年7月の開田髭沢では，このような自然雑種と推定される♂個体が，ナミ：自然雑種：コヒが19：9：15で採集された．したがって，自然雑種は決して稀ではないと考えられる．

図5に開田髭沢で採集されたコヒ♀から採卵飼育した♀個体（Hybrid index = 0.55）を示す．この個体はナミともコヒとも判別できない形態をしており自然雑種と推定される．次に図6に，開田髭沢および南牧村飯盛山で採集されたナミ♀から採卵飼育した個体のうち，自然雑種と推定される個体を示す．Hybrid indexは，No.41が0.80，No.39と43が0.65，No.45が0.55で，いずれもナミに近い斑紋をしているがナミではない．以上のように，両混棲地の母蝶からは，ナミ，コヒのどちらとも判別が難しい，あるいは完全にはどちらかに分類できない自然雑種と推定される個体が羽化した．

表2に開田髭沢での幼虫採集結果を示す．表に示したように，ワレモコウからコヒも羽化したが，オニシモツケからはナミは羽化しなかった．しかし，オニシモツケから採集した幼虫の中に，人工雑種と似た形態の幼虫（図7）が含まれていたため，これを飼育したところ，明らかに自然雑種と推定される個体（図8）が羽化した．この個体のHybrid indexは0.45で，No.37に似てはいるが，よりコヒに近い斑紋をしている．

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
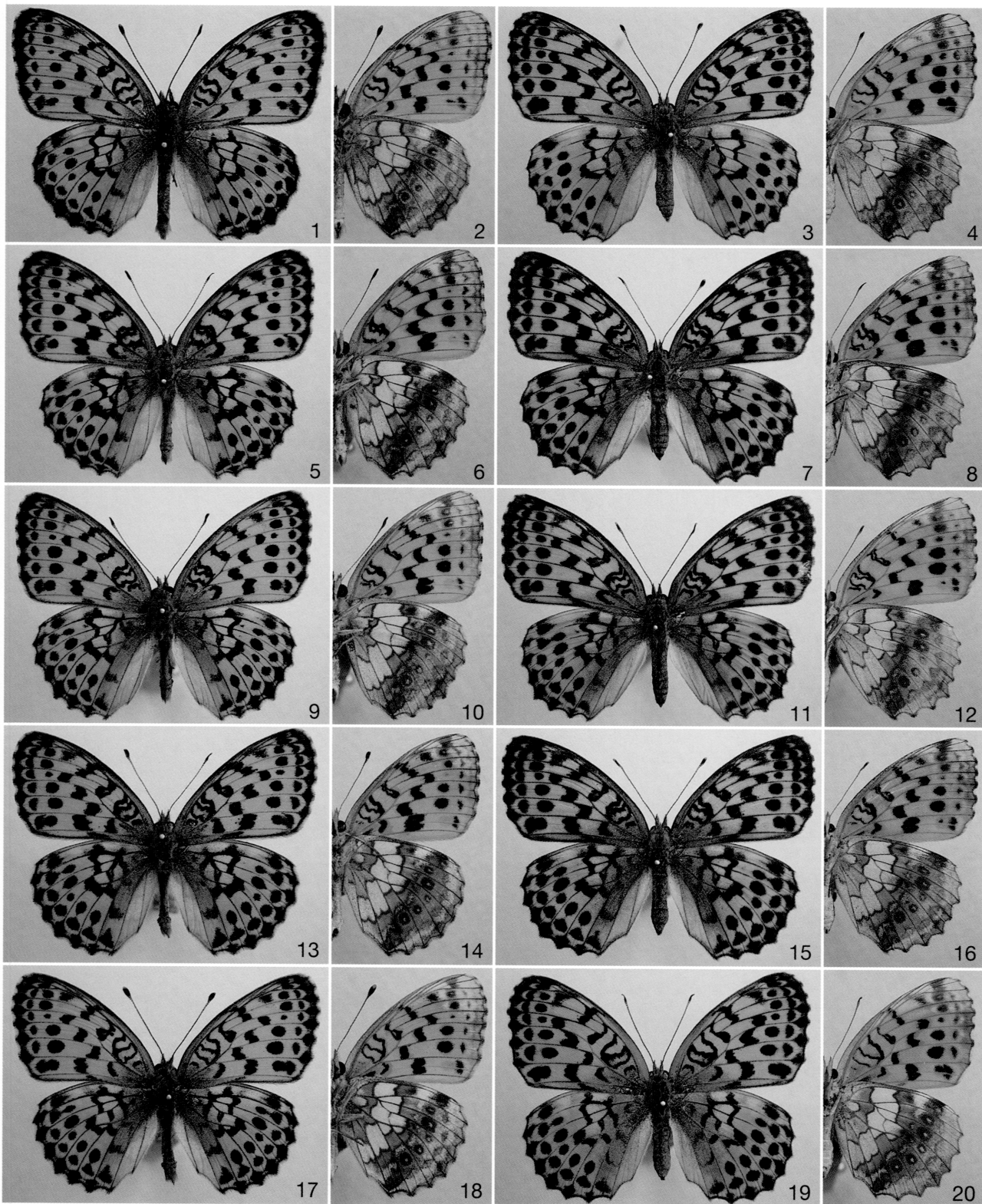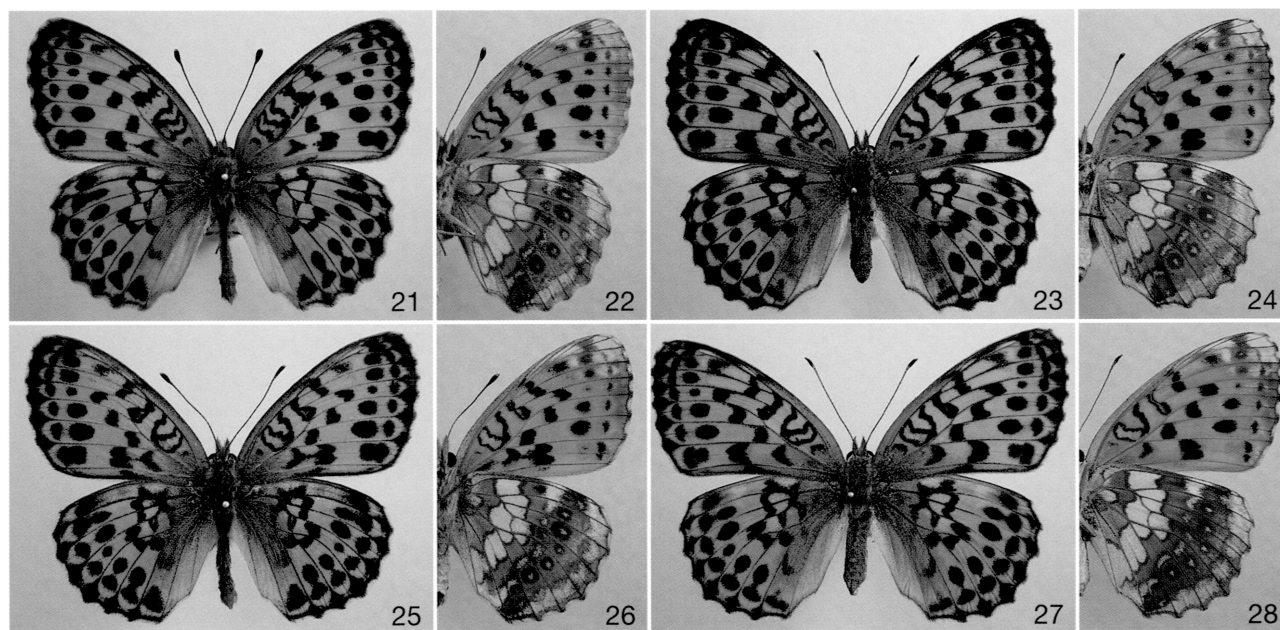
図3. ヒョウモンチョウ（開田髭沢産）と人工雑種F1, BC1, BC2およびコヒョウモン（開田髭沢産）の成虫♂表裏と♀表裏.

Fig. 3. Male (left two columns) and female (right two columns) adults of *B. daphne* (D), *B. ino* (I), crosses, and back crosses: 1–4, D; 5–8, BC2 ((D × (D × I)) × D); 9–12, BC1 (D × (D × I)); 13–16, F1; 17–20, ((D × I) × (D × I)); 21–24, BC1 ((D × I) × I); 25–28, I.
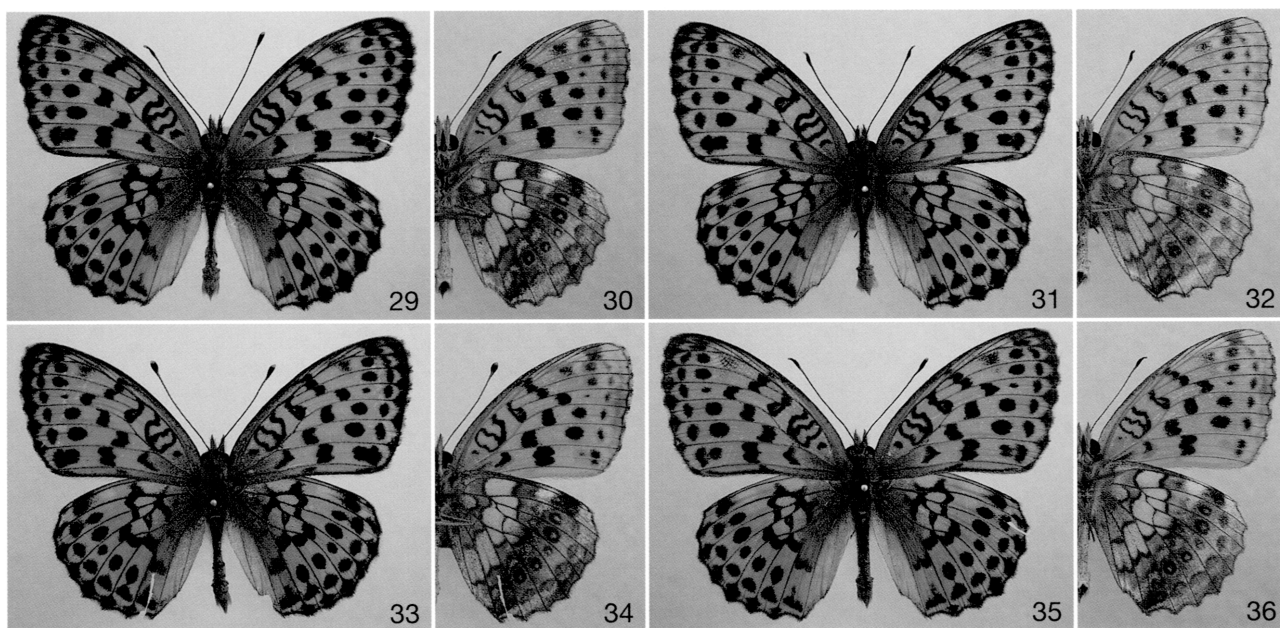
図4. 開田髭沢で2010年7月に採集された自然雑種と推定される♂成虫.

Fig. 4. Adult males thought to be natural hybrids collected in Kaida Higesawa in July 2010: 29–30 (hybrid index, 0.65), 31–32 (0.70), 33–34 (0.45), 35–36 (0.65).

以上のように，混棲地における幼虫と成虫の調査から，混棲地では自然雑種が少なからず発生していると判断された.

次に再捕獲調査の結果を表3に示す．マーキングはコヒ♂のみを対象に2011年7月の発生初期に開田髭沢で行ったが，マーキングした全25個体中，個体番号4，7など計5個体が7日後に同じ場所で再捕獲され，個体番号4はさらにその4日後に同所で再々捕獲された．以上の結果を見ると，コヒ♂は移動性が低く発生場所の食草群落から離れることは少ないものと推定される．また，個体番号4は発生後少なくとも11日間生存していたことになる.

総合考察

以上の交雑実験（図1〜3，表1）と混棲地調査（図4〜8，表2，3）の結果から，ナミとコヒの混棲地では自然雑種が少なからず形成され，双方に遺伝子浸透が起きていると判断された．この関係は，北原・川田（1987），北原（1991）のウスバシロチョウとヒメウスバシロチョウの関係，あるいは伊藤・吉崎（1963），原・落合（1980），石塚（1985）の報告したギフチョウとヒメギフチョウの関係に似ているが，このうち前者は，混棲地で自然雑種が多数形成されているものの，F1♀♂に生殖能力がないことから，生殖後隔離が完全で遺伝子浸透が起きていないことが確認されている．また後者は，混棲地でギフチョウ♀×ヒメギフチョウ♂の自然雑種が認められるが，BC2以降の累代が難しいことから遺伝子浸透の可能性はそれほど高くない．一方，エゾスジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウ，あるいはスジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウの関係も複雑であるが，前者は半種状態で生殖前隔離が不十分と考えられ，また生殖後隔離はF1♀に生殖能力がないがF2以降は生殖能力があるため不十分という結果が得られている（黒田・北原，2010）．後者のスジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウについては，F1，BC1，BC2の各♀に生殖能力がなく，逆に♂にはあることが判明している（北原，2009）．これらの種間関係と比較すると，ナミとコヒは，遺伝的な類似度がエゾスジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウより近いことが推定される．また，半種と考えられるエゾスジグロシロチョウとヤマトスジグロシロチョウの関係を除く他の近似種間関係に比べて，より頻繁に種間交雑が発生しており，遺伝子浸透が起きていると推定される．すなわち，ナミとコヒは生殖前隔離が不十分である可能性があり，かつ生殖後隔離がほとんど起きていないため，遺伝子浸透が起きている可能性がある.

しかし，両種が長期の混棲にもかかわらず別種として存在するには，何らかの生殖的隔離が働いていることが推察される．その原因は以下のように考えられる．まず，ナミ♀×コヒ♂の組合せのみ種間交雑が発生するが，自種同士と比べて発生確率はそれほど高くない（表1）．加えて，ナミがワレモコウ，コヒがオニシモツケと比較的強く結びついていること，特にコヒはオニシモツケ群落から離れることが少なく定着性が高い（表3）ため，コヒ♂がワレモコウ群落で羽化した未交尾のナミ♀と遭遇する可能性は低いことが考えられる．両種を飼育したり混棲地で観察していると，コヒ♂はナミ♂に比べ2〜3日早く羽化する．また，両種♀はそれぞれ♂より4日程度遅く羽化する．そのため，コヒ♂がナミ♀と交雑するためには1週間程度は生存していなければならない．そのためさらにナミ♀×コヒ♂の可能

表2. 混棲地における幼虫採集結果（2011年5月21日，6月3日，開田髭沢）.
Table 2. *Brenthis* larvae collected in Kaida Higesawa on May 21 and June 3, 2011.

Food plant	Collected larvae	Parasitized larvae*	Emerged adults
オニシモツケ *Filipendula camtschatica*	May 21: 3rd instar, 7 Jun. 3: 4th instar, 13 + 5th instar, 7	4 exs –	*B. daphne*: – Natural hybrid: 1 ♀ *B. ino*: 10 ♂ 9 ♀
ワレモコウ *Sanguisorba officinalis*	May 21: 3rd instar, 4 Jun. 3: 4th instar, 8 + 5th instar, 1	4 exs –	*B. daphne*: 5 ♂ Natural hybrid: – *B. ino*: 1 ♂ 1 ♀

*Parasitic wasp emerged from 3rd instar larvae.

表3. コヒョウモン♂の再捕獲調査の結果（2011年7月，開田髭沢）.
Table 3. Recapture survey of *B. ino* adult males in Kaida Higesawa in July 2011.

Individual number	Capture date	Capture point	Recaptured individual number	Recapture date	Recapture point	Re-recaptured individual number	Re-recapture date	Re-recapture point
1〜5	Jul. 2	A	4	Jul. 9	A	4	Jul. 13	A
6〜12	Jul. 2	B	7	Jul. 9	B	–	–	–
21〜30	Jul. 9	A	21, 24, 28	Jul. 13	A	–	–	–
31〜33	Jul. 9	B	–	–	–	–	–	–

Point A is 2 km from Point B.
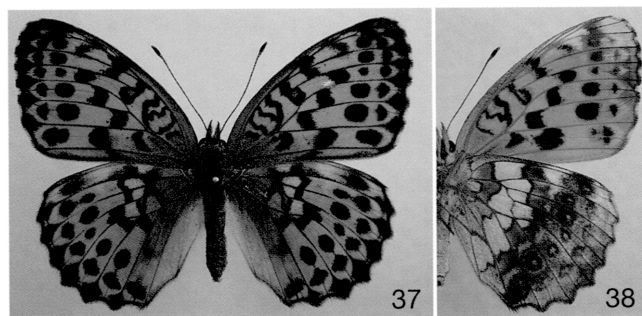
図5. 混棲地で採集したコヒョウモン♀から採卵飼育した自然雑種と推定される♀成虫.

Fig. 5. Adult female thought to be a natural hybrid reared from an egg of a *B. ino* adult female collected in Kaida Higesawa: 37–38 (hybrid index, 0.55).
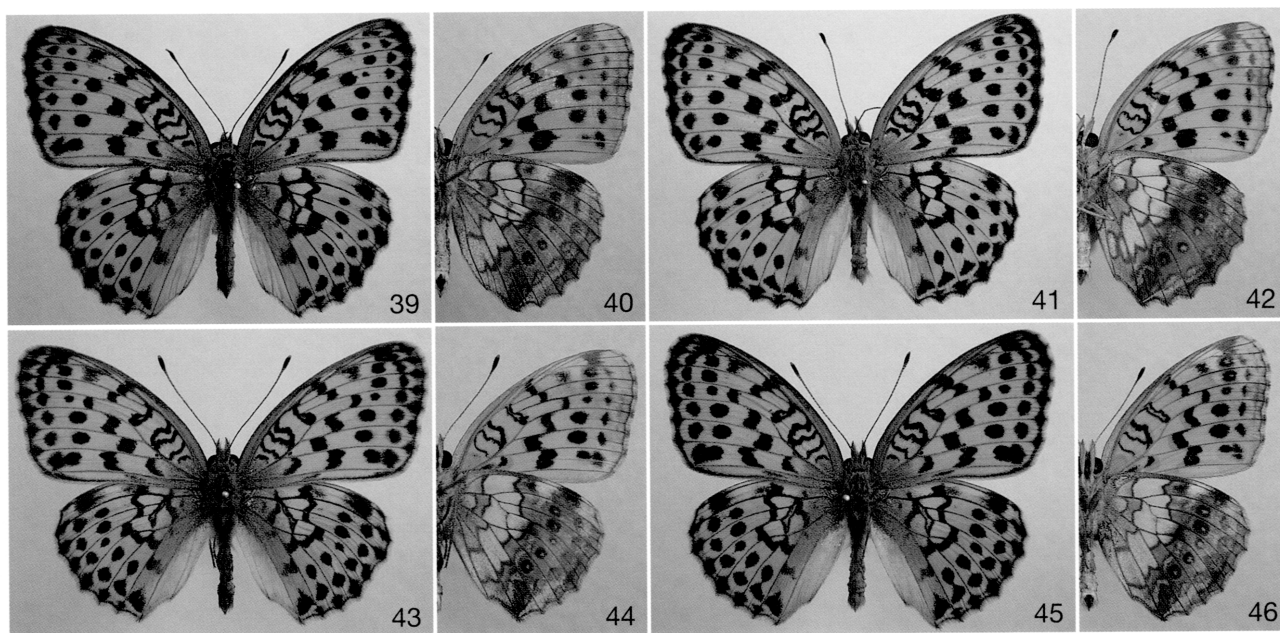
図6. 混棲地で採集したヒョウモンチョウ♀から採卵飼育した自然雑種と推定される♂成虫.

Fig. 6. Adult males thought to be natural hybrids that were reared from eggs of *B. daphne* adult females collected from both survey areas: Kaida Higesawa, 39–40 (hybrid index, 0.65); Mt. Meshimori, 41–42 (0.80), 43–44 (0.65), and 45–46 (0.55).
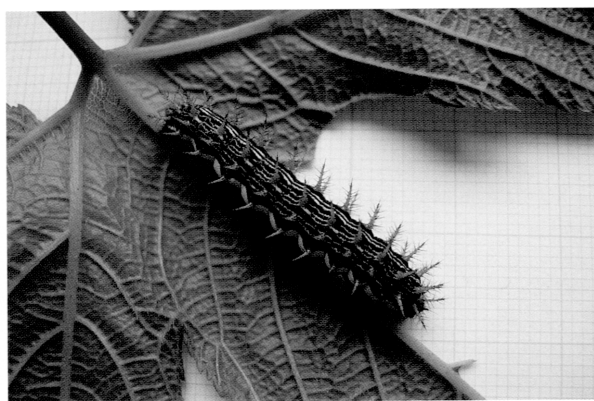
図7. 開田髭沢でオニシモツケから採集されたF_1に似た中間的形態の終齢幼虫.
(この幼虫から図8の成虫が羽化した).

Fig. 7. F1 hybrid-like mature larva collected from Kamchatka Meadowsweet (*Filipendula camtschatica*) in Kaida Higesawa (the adult female shown in Fig. 8 emerged from this larva).
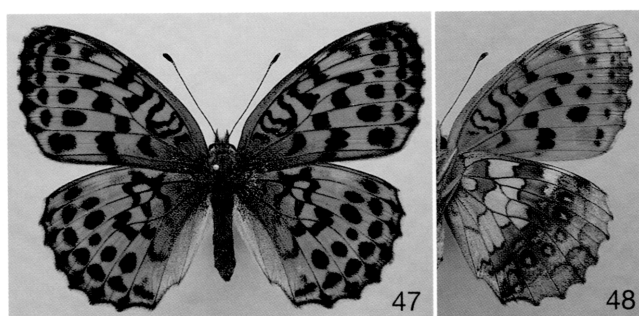
図8. 開田髭沢のオニシモツケより採集した幼虫を飼育羽化させた自然雑種と推定される♀成虫.

Fig. 8. Adult female thought to be a natural hybrid reared from the larva collected from Kamchatka Meadowsweet (*Filipendula camtschatica*) in Kaida Higesawa (emerged from the larva shown in Fig. 7): 47–48 (hybrid index, 0.45).

性は低くなるものと推定される．さらに，コヒ♂と交雑したナミ♀は，交尾から産卵開始まで9日程度は産卵しないため，その間に移動し混棲地から離れてナミの食草であるワレモコウ群落で産卵を開始するものと考えられる．したがって，ナミの遺伝子中にコヒの遺伝子が浸透してもナミの大きな個体群が背後にあれば，コヒの遺伝子は急速に薄まることが考えられる．一方，コヒ♀はナミ♂と交雑しないと考えられ（表1），また移動性が小さいと推定されるので，コヒ個体群にはナミ個体群ほど遺伝子が浸透しにくいと考えられる．ところが，開田髭沢のように，両種とも個体群が小さく，またワレモコウとオニシモツケ群落が混在し混棲が広く起きている場合，ナミ♀×コヒ♂の交雑が起こりやすく，またいったん起きるとコヒ♂と交雑したナミ♀は，オニシモツケ群落と隣接したワレモコウ群落に産卵しそこで翌年F1♀♂が発生する．するとF1は，ナミとでもコヒとでも戻し交配あるいはF1同士で交尾してしまい（表1），いろいろな遺伝子の割合を持ったBC1，さらにはBC2，BC3...を形成（表1）していくものと推定される．

なお開田高原一帯は，第二次世界大戦後に入植開拓された場所であり，半自然の森林，渓流，湿地が農地と複雑に入り組んでいる．髭沢においても半自然状態の湿地や草地と農地が複雑に入り組んでいるほか，草地の維持のため毎年4月に野焼きが行われ，人為的な植生攪乱の影響が大きい．すなわち，本来は渓谷沿いの林縁や湿った明るい林床などに成育するオニシモツケが，水田の用水路沿いに成育する一方，乾燥した草地に成育するワレモコウが田畑の土手や農業用の作業路沿いに成育しており，両食草は複雑に入り組んで成育している．また，このような両食草の分布が毎年4月に行われる野焼きにより維持されているものと考えられる．しかし最近，開田髭沢の混棲地の一部では水田を休耕し用水路に水を流さなくなったため，オニシモツケ群落が急速に衰退してきている．このようなことから，両種の遺伝子浸透現象は，両種の接触が少ない開拓以前にも多少はあったものの，戦後開拓で混棲が広く起こり比較的頻繁に発生したと考えられ，人為的な側面が大きいと推察される．

おわりに

ナミとコヒの種間関係について，交雑実験と混棲地調査を行った結果，混棲地で自然雑種が多数発生し遺伝子浸透が起きていることが確認できた．しかし，両種の遺伝子が完全に混じり同種化していないことから，何らかの生殖的隔離が働いているものと推察される．その点，本報告は不十分であり，今後も交雑実験の追試と混棲地調査を継続して行っていく必要がある．ナミとコヒに限らず近似種同士の種間関係については，不明な点が数多くあり，交雑実験と混棲地調査，食性試験，そして遺伝子調査など多方面からのアプローチが必要である．特に自然雑種を形態だけで判別することには限界があり，今後は遺伝子調査が必要不可欠である．そして，これらの実験や調査を通じて得られた成果を総合的に検討し，近似種間の種間関係の解明を行う必要があろう．また近似種間の種間関係の解明は，種分化のメカニズムの解明とも密接に関係しており，今後，いろいろな近似種間の種間関係の解明を行っていくべきであろう．

引用文献

原　聖樹・落合弘典, 1980. ギフチョウ雄とヒメギフチョウ雌の種間雑種第1世代について．蝶と蛾 **31**: 97–101.
石塚祺法, 1985. ギフチョウ属の類縁関係．やどりが **121**: 31.
伊藤建夫・吉崎和幸, 1963. ギフチョウとヒメギフチョウの種間雑種．蝶と蛾 **13**: 80–82.
北原　曜・川田光政, 1987. ウスバシロチョウとヒメウスバシロチョウの人工交雑と混棲地における雑種．蝶と蛾 **38**: 259–268.
北原　曜, 1991. ウスバシロチョウとヒメウスバシロチョウの人工交雑，自然雑種の生殖能力．蝶と蛾 **42**: 53–62.
———, 2008. ヒョウモンチョウとコヒョウモンの種間雑種．蝶と蛾 **59**: 144–148.
———, 2009. スジグロシロチョウとエゾスジグロシロチョウの種間関係: (I) 人工交雑の結果．蝶と蛾 **60**: 81–91.
黒田　哲・北原　曜, 2010. 日本産エゾスジグロシロチョウの北海道亜種と本州亜種の交配結果．蝶と蛾 **61**: 263–271.
Svensson, O., B. Egger, B. Gricar, K. Woodhouse, C. van Oosterhout, W. Salzburger, O. Seehausen and G. F. Turner, 2011. Segregation of species-specific male attractiveness in F2 hybrid Lake Malawi Cichlid Fish. *Int. J. Evol. Biol.* **2011**: 1–7.

Summary

In order to clarify the relationship between *Brenthis daphne* and *B. ino*, which are closely related species, artificial interspecific hybrids and back crosses were attempted. In pairing experiments carried out in cages, 3 pairings of *Brenthis daphne* males and *B. ino* females produced offspring. The reciprocal combination showed mutual indifference and did not successfully mate. Both male and female F1 hybrids easily mated with each of the parental species. Morphology and growth for all stages of F1 and first- and second-generation back crossed offspring were normal with little mortality, and adults of all groups were able to reproduce. For reference, a natural hybrid survey was conducted in two areas of Nagano Prefecture in central Japan, Kaida Higesawa in Kiso Town and Mt. Meshimori in Minamimaki Village, where these species both occur. In collections from Kaida Higesawa, adult males thought to be natural hybrids were present in rather high proportion. Intermediate larvae were collected from the plant Kamchatka Meadowsweet (*Filipendula camtschatica*), and crosses of these individuals produced offspring that had characteristics similar to those of the artificial hybrids produced in the laboratory. Eggs from adult females collected in the two areas were hatched, and many individuals with various intermediate features, identified as being natural hybrids, were obtained. Findings from field surveys and hybridization show that the natural hybrid is common in areas where these species both occur and that there is genetic introgression between these species.

(Received February 28, 2012. Accepted June 14, 2012)